

UNTERSUCHUNGEN
ZUR KERN- UND ZELLTEILUNG
AN XTH-ZELLEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung des Doktorgrades
der Naturwissenschaften
vorgelegt im Fachbereich Biologie
der
Johann-Wolfgang-Goethe-Universität
zu Frankfurt am Main

von
Ursula Euteneuer
aus
Biedenkopf

Frankfurt am Main
Januar 1978

Mit Genehmigung des Fachbereichs Biologie zum Druck gekürzt

Ein Exemplar der ungekürzten
Arbeit liegt in der Sencken-
bergischen Bibliothek der
Universität vor.

Dekan: Prof. Dr. G. Neuweiler

1. Gutachter: Prof. Dr. J. Bereiter-Hahn

2. Gutachter: Prof. Dr. K. Fiedler

Mündliche Prüfung: 12. 4. 1978, 13. 4. 1978

Tag der Promotion: 13. 4. 1978



Kern- und Zellteilung der XTH-Zellen (Gewebekulturzellen von Kaulquappenherzen des afrikanischen Krallenfrosches *Xenopus laevis*) werden licht- und elektronenmikroskopisch untersucht. Im Vordergrund der Arbeit stehen Untersuchungen an unbehandelten Zellen sowie Laserstrahlenstich- und Colchicinexperimente. Die feinstrukturelle Analyse der Zellen unter den verschiedenen Bedingungen befaßt sich schwerpunktmäßig mit der Rekonstruktion der Mikrotubuli-Verteilung anhand von Serienschnitten. Im einzelnen wurden folgende Ergebnisse gewonnen:

1. Die Zentriolen, deren Verhalten den Ablauf der Prometaphase entscheidend beeinflusst, liegen in der Inter- und Prophase meist über dem Kern auf der Oberseite der XTH-Zellen. Nach der Auflösung der Kernmembran schieben sich die Pole, die zu diesem Zeitpunkt nur einen geringen Abstand voneinander haben, mit ihren Astern zwischen die Chromosomen und drängen diese dadurch zur Seite. In diesem Stadium besteht der Mitoseapparat aus zwei großen sich in der Äquatorialebene überlagernden Astern. Mit der Wanderung der Chromosomen in die Metaphaseplatte ändert sich die Mikrotubuli-Verteilung und die Spindellänge nimmt zu. Die Mikrotubuli verlaufen nun weitgehend parallel zur Pol-Pol-Achse und bilden eine typische Spindel. Trotz des großen Kinetochoren-Pol-Abstandes lassen sich einzelne Kinetochoren-Mikrotubuli bis in die perizentrioläre Zone verfolgen. Entsprechende Beobachtungen werden in der Anaphase, begünstigt durch die Annäherung der Chromatiden an die Pole, häufiger gemacht. Sobald sich die

Digitized by the Internet Archive
in 2026

4

Chromatiden voneinander getrennt haben, wird der Verlauf der interzonalen Mikrotubuli deutlich. Sie sind parallel zu den Chromatidenarmen angeordnet und reichen teilweise bis in die Äquatorialebene hinein, wo es zu einer Verzahnung mit den Mikrotubuli der anderen Spindelhälfte kommt. Gelegentlich werden auch querbrückenartige Verbindungen zwischen den Mikrotubuli der beiden Gruppen gebildet. Mit der Dekondensation des Chromatins in der Telophase erfolgt eine schrittweise Zusammenlagerung der interzonalen Mikrotubuli zum sogenannten Flemmingkörper. Gleichzeitig wird das Cytoplasma im Bereich der ehemaligen Metaphaseplatte durch ein Band von 5 - 6 nm dicken (Aktin-ähnlichen) Filamenten eingeschnürt (Cytokinese).

2. Mehrkernige Zellen sind das Ergebnis einer unvollständigen oder unterbliebenen Cytokinese. Während der Kern- und Zellteilung unterscheiden sie sich von den einkernigen Zellen nur durch den Aufbau des Spindelapparates; der Ablauf der Mitose ist prinzipiell vergleichbar. In Abhängigkeit von der Lage der Pole in der Prophase werden verschiedene Metaphasekonfigurationen beobachtet. Oft treten Fehlorientierungen von Kinetochoren-Mikrotubuli auf, bei denen die Mikrotubuli eines Kinetochors auf verschiedene Pole weisen. In der Anaphase bleiben die betroffenen Chromatiden hinter den anderen zurück und können dadurch eine Kernbrücke oder ein Kernfragment verursachen. Die Cytokinese ist meist unvollständig, so daß fast immer neue mehrkernige Zellen im Anschluß an die Mitose entstehen.

3. In den Laserstrahlenstichexperimenten werden in verschiedenen Spindelbereichen örtlich eng begrenzte Läsionen gesetzt, der Einfluß der Bestrahlung auf den Ablauf der Mitose wird lichtmikroskopisch erfaßt und zu unterschiedlichen Zeiten nach dem Eingriff elektronenmikroskopisch untersucht. Im Blaulicht-Bereich (457,9 nm) führt die Bestrahlung definierter Chromosomenbezirke zu einer partiellen Dekondensation des Chromatins. Die Anaphasebewegung der Chromatiden ist aufgrund der unvollständigen Trennung behindert und es kommt im Verlauf der Telophase zu schmalen Verbindungen zwischen den neuen Kernen.

In gleicher Weise durchgeführte Spindelbestrahlungen rufen unterschiedliche Reaktionen der Zellen hervor; das Spektrum reicht von einer geringen Verzögerung des Anaphasebeginns bis zu einer extremen Hemmung der Anaphasebewegung mit nachfolgender Bildung eines einzigen Tochterkernes. Es wird vermutet, daß das Ausmaß der Auswirkung von der Anzahl und Art der geschädigten Mikrotubuli abhängt. Die Beeinträchtigung des Mitoseablaufs nach Polbestrahlungen stimmt prinzipiell mit der nach Spindelbestrahlungen überein. Da sich Aster-, Kinetochoren- und interzonale Mikrotubuli in unmittelbarer Nähe der Pole befinden, wird auch hier eine Beeinflussung über Mikrotubuli angenommen. Auf feinstruktureller Basis konnten jedoch keine morphologischen Veränderungen der betreffenden Organelle (Mikrotubuli, Zentriolen) festgestellt werden.

4. Nach Laserbestrahlungen mit UV-Licht (351,1 + 363,8 nm) kommt es zu gravierenden Auswirkungen auf Spindelmorphologie und Dynamik des Mitoseablaufs. Wegen der höheren Eigenabsorption der Proteine bei diesen Wellenlängen führen Spindel- und Polbestrahlungen zu einer dauerhaften Verkürzung der Spindel, die durch eine Depolymerisation von Mikrotubuli hervorgerufen wird. Wie die Mikrotubuli-Diagramme zeigen, nimmt in bestrahlten Metaphasespindeln insbesondere die Anzahl der Aster- und interzonalen Mikrotubuli deutlich ab. Die Trennung der Chromatiden bleibt durch die Beeinträchtigung der Anaphasebewegung unvollständig, so daß in der Telophase alle Chromatiden in einem Kern eingeschlossen werden. Da der Verlauf der interzonalen Mikrotubuli während der Anaphase in bestrahlten Zellen starke Unregelmäßigkeiten aufweist, kann man annehmen, daß sowohl die Spindelschrumpfung als auch die gestörte Anaphasebewegung schwerpunktmäßig auf einer Schädigung der interzonalen Mikrotubuli beruhen. Auch nach Polbestrahlungen mit UV-Laserlicht konnte keine Zerstörung der Zentriolen erreicht werden.

5. Unter dem Einfluß von Colchicin (10^{-5} - 10^{-6} M) löst sich die Spindel innerhalb von 5 - 30 Minuten allmählich auf. Dabei sind interzonale und Aster-Mikrotubuli zuerst von der Colchicinwirkung betroffen, während sich die Kinetochoren-Mikrotubuli als stabiler erweisen. Sie stellen Verbindung zwischen Chromosomen und Polen her, die

des Abbaus der Spindel erhalten bleibt. Bei Metaphase-spindeln führt die Verkürzung von Kinetochoren-Mikrotubuli zu einer Wanderung der Pole in Richtung auf die Äquatorialebene, da die Chromosomen den von zwei Seiten ansetzenden Kräften ein Widerlager bieten. In der Ringphase dagegen heben sich die Zugkräfte der radiär um die Pole angeordneten Chromosomen weitgehend auf, so daß sich die Chromosomen zum Pol bewegen. Kommt der depolymerisierende Einfluß des Colchicins erst kurz nach der Trennung der Chromatiden in der Anaphase zur Geltung, überlagert sich die Annäherung der Chromatiden an die Pole mit einer Spindelverkürzung (= Bewegung der Pole zu den Chromatiden).

Mit den in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnissen wird unter Einbeziehung von Daten aus der Literatur folgendes Erklärungsmodell für den Mechanismus der Anaphasebewegung entwickelt: Grundlage der Arbeitshypothese ist, daß den beiden voneinander trennbaren Anaphasebewegungen (Anaphase A = Annäherung der Chromatiden an die Pole; Anaphase B = Spindelverlängerung) auch zwei verschiedene Mechanismen zugrunde liegen. Danach ist für die Anaphase A Voraussetzung, daß die Kinetochoren-Mikrotubuli eine kontinuierliche Verbindung zwischen den Chromatiden und den Polen herstellen. Allein der Abbau der Kinetochoren-Mikrotubuli ist für die Wanderung der Chromatiden zu den Polen verantwortlich. Anaphase B wird unabhängig von Anaphase A durch die interzonalen Mikrotubuli über einen Gleitmechanismus (sliding) analog der Muskelkontraktion bewirkt.

Dieses Modell, das sich auch zwanglos zur Erklärung der Vorgänge der Prometa- und Metaphase heranziehen läßt, kann aber nur für Mitosen höherer tierischer Zellen gelten. Auf Kernteilungen anderer Organismen, wie Protozoen, niedere Algen, Pilze und auch höhere Pflanzen, ist das Modell nur in Teilaspekten anwendbar. Zahlreiche Untersuchungen an diesen Zelltypen machen einen einheitlichen Mechanismus im gesamten Tier- und Pflanzenreich nicht sehr wahrscheinlich.

L E B E N S L A U F

Am 26. 8. 1949 wurde ich als Tochter des Kaufmanns Robert Euteneuer und seiner Frau Margrit, geb. Limberger, in Biedenkopf an der Lahn geboren. Nach unserer Übersiedlung nach Frankfurt im Jahre 1954 besuchte ich zunächst die Volksschule (Riedhofschule: 1956--1958; Pestalozzischule: 1958--1960) und anschließend das Gymnasium (Herderschule). Mein Abitur legte ich im Juni 1968 an der Bettinaschule (ebenfalls Frankfurt) ab, zu der ich im Frühjahr 1966 gewechselt hatte. Im Wintersemester 1968/69 immatrikulierte ich mich für das Studium der Biologie an der Johann-Wolfgang-Goethe-Universität. Nach bestandener Vordiplomprüfung (1971) entschied ich mich für die Fächer Zoologie (Hauptfach), Mikrobiologie und Pharmakologie (Nebenfächer) im Hauptstudium, in denen ich 1973 die Diplomprüfung ablegte. In der Arbeitsgruppe Kinematische Zellforschung verfasste ich eine Diplomarbeit über das Thema "Feinstrukturelle Veränderungen des Mitoseapparates bis zur Metaphase bei Herzendothelzellen von *Xenopus laevis* (Daudin) *in vitro*".

Frankfurt am Main, 16. 1. 1978

Meine akademischen Lehrer waren folgende Damen und Herren
Professoren und Dozenten:

Bereiter-Hahn, Brendel, Brändle, Burkhardt, Dänzer, Döhler,
Doiwa, Egle, Fasold, Fiedler, Gebhardt, Hanke, Hilgenberg,
Hölldobler, Hohorst, Jander, Kaplan, Kohlenbach, Kranz,
Kroneberg, Kuhl, Lange, Lehr, Lindauer, Lötschert, Lotz,
Martiensen, Maschwitz, Mennigmann, Merkel, Oehmke, Palm,
Pons, Reichert, Rhaese, Ried, Rietschel, Rosenmund, Rosen-
stock, Royen, Schaub, Schaumann, Starck, Steiger, Teuber,
Wallhäußer, Wild, Wiltschko, Winter, Ziegler.

